

ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*

พีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์¹, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย² และ สุบัณฑิต นิมรัตน์*

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา, ²ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

³ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจำนวน 2 ชนิด คือ ขมิ้นชัน และ กระเทียม เปรียบเทียบกับสารสมุนไพรสกัดสดจำนวน 6 ชนิด (ขมิ้นชัน กระเทียม จิง ข่า พริก และ ใบมะกรูด) ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99.8% ในอัตราส่วนสมุนไพร 1 มิลลิกรัมต่อเมทานอล 1 มิลลิตรทำการเจือจางเป็น 3 ระดับความเข้มข้น (20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร) และนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้ง Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) กลุ่มละ 20 ไอโซเลต ด้วยวิธี Disk diffusion ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA เท่ากับ 10% และ 5% ตามลำดับ จากจำนวน MRSA 20 ไอโซเลตและ MSSA 20 ไอโซเลต และสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียมและสารสมุนไพรสกัดสดจากขมิ้นชัน กระเทียม จิง ข่า พริก และใบมะกรูด ไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ดังนั้นจากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดสมุนไพรสำเร็จรูปจากขมิ้นชันมีความสามารถในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้บางส่วน

คำสำคัญ: MRSA, MSSA, ขมิ้นชัน, กระเทียม, จิง, ข่า, พริก, ใบมะกรูด

*Corresponding author:

สุบัณฑิต นิมรัตน์

ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

E-mail: subunti@buu.ac.th

Efficiency of some commercial herb extracts and fresh herb extracts on inhibition of *Staphylococcus aureus* growth

Peeraphat Supannapan¹, Verapong Vuthiphandchai² and Subuntith Nimrat^{3*}

¹Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

²Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University

³Department of Microbiology and Environmental Science Program, Faculty of Science, Burapha University

ABSTRACT

The antibacterial activity of two commercial herb extracts (Curcuma (*Curcuma longa* Linn.) and Garlic (*Allium sativum* Linn.)) extract on 20 isolates of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and 20 isolates of Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) was studied and compared with six fresh herb extracts (Curcuma, Garlic, Ginger, Chinese ginger, Chilli, and Citrus leaf) macerated in 99.8% methanol at the proportion of 1:1 (w/v) of the test herb and methanol. The extracts of each test herb were prepared at three concentrations of 20, 100 and 500 mg/ml and then all dilutions were evaluated for efficiency on 20 isolates of MRSA and 20 isolates of MSSA by disk diffusion method. Result showed that extract from Curcuma exhibited the bacterial activity against MRSA and MSSA (10% of MRSA 20 isolates and 5% of MSSA 20 isolates, respectively). However, the effect of commercial herb extracts from Garlic and all of fresh herb extracts did not inhibit both test MRSA and MSSA. Therefore, the results suggested that commercial herb extract of Curcuma was able to inhibit some isolates of MRSA and MSSA.

Keywords: MRSA; MSSA; Curcuma (*Curcuma longa* Linn.); Garlic (*Allium sativum* Linn.); Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.); Chinese ginger (*Alpinia nigra* (Gaertn.) Burt); Chilli (*Capsicum annuum* Linn.); Citrus leaf (*Citrus hystrix* DC.)

*Corresponding author:

Subuntith Nimrat

Department of Microbiology and Environmental Science Program,
Faculty of Science, Burapha University

E-mail: subunti@buu.ac.th

บทนำ

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อที่มีความสำคัญมากในทางการแพทย์และสาธารณสุข¹ โดยจัดเป็นเชื้ออันดับสามที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ^{2,3} เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคฝี หนอง⁴ และสามารถเข้าสู่กระแสเลือดของมนุษย์ได้⁵ และในปัจจุบันมีแนวโน้มของการดื้อยาของแบคทีเรียกลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้น⁶⁻⁹ โดยเริ่มพบว่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* เกิดการดื้อยา Penicillin ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1940¹⁰ หลังจากนั้นเชื้อได้มีการพัฒนาอย่างรวดเร็วโดยเกิดการดื้อยา Methicillin และยาในกลุ่มเบต้าแลคแตม จึงเรียกเชื่อนี้ว่า Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* หรือ MRSA¹¹ และในปัจจุบันพบว่า MRSA ไม่ได้ดื้อยาเฉพาะ Methicillin และยาในกลุ่มเบต้าแลคแตมเท่านั้น แต่ยังดื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดอื่น ๆ อีก เช่น ยาในกลุ่ม Aminoglycosides, Fluoroquinolones, Macrolides และ Tetracyclines^{5,12,13} และยาที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อจาก MRSA ในปัจจุบันคือ Vancomycin¹⁰ ซึ่งเป็นยาที่มีราคาแพง รวมทั้งในปี ค.ศ. 1997 เริ่มพบว่า MRSA มีความไวต่อยา Vancomycin น้อยลง ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ในปัจจุบันมีนักวิทยาศาสตร์จำนวนมากแสวงหากลวิธีรูปแบบใหม่ ๆ ในการรักษาโรคติดเชื้อ^{14,15} ทดแทนยาปฏิชีวนะ ซึ่งผลิตภัณฑ์ธรรมชาตินับเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สำคัญในการนำมาใช้รักษาโรคติดเชื้อ^{16,17,18} โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้พืชสมุนไพรจากการวิจัยพบว่าสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรนั้นมีผลข้างเคียงในการรักษาน้อยมากเมื่อเทียบกับยารักษาโรคที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารเคมี^{9,19} จึงทำให้การวิจัยเพื่อค้นหาตัวยาใหม่ในรูปสารบริสุทธิ์จากพืชยังคงดำเนินการอยู่อย่างต่อเนื่อง ขณะเดียวกันนักวิทยาศาสตร์บางกลุ่มพบว่าสารสกัดหยาบ (Crude extract) ของพืชบางชนิด สามารถแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้ดีกว่าสารสกัดบริสุทธิ์²⁰ ที่เป็นองค์ประกอบใน

ตัวยา ทำให้ทิศทางการวิจัยในปัจจุบันหันกลับมาสนใจพัฒนาจากพืชสมุนไพรในรูปของสารสกัดหยาบหรือในรูปแบบผงที่ผลิตเป็นการค้ามากขึ้น²¹ ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาประสิทธิภาพของกระชายดำและส้มแขกสำเร็จรูปในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้²² การศึกษาสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชัน และศึกษาถึงฤทธิ์ของสารสมุนไพรสกัดสดจากขิง กระเทียม และมะกรูด ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus*²⁴ พบว่าสารสกัดสมุนไพรดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้เช่นเดียวกัน เป็นต้น ซึ่งจากงานวิจัยหลายฉบับที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่าสมุนไพรสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อต่าง ๆ ได้²⁵

ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงสนใจที่จะนำสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดบางชนิดมาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) เพื่อเป็นทางเลือกของการใช้สมุนไพรทั้ง 2 ชนิดหรืออย่างใดอย่างหนึ่งมาทดแทนยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก MRSA และ MSSA ได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การทดสอบคุณสมบัติทั่วไปของเชื้อ MRSA และ MSSA²⁶⁻²⁸

การทดสอบและการจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม MRSA และ MSSA ด้วยวิธีมาตรฐานของ Holt et al. (1986), Colle et al. (1996) และ Hakim et al. (2007) ดังนี้ โดยนำตัวอย่างเชื้อ MRSA จำนวน 20 ไอโซเลต และ MSSA จำนวน 20 ไอโซเลต จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลชลบุรี จังหวัดชลบุรี และโรงพยาบาล

จะเชิงเทรา จังหวัดฉะเชิงเทรา เพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood Agar (BA) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สังเกตลักษณะโคโลนี และลักษณะการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) นำโคโลนีของ *S. aureus* ไปย้อมสีแกรม, Catalase test, Coagulase test และการทดสอบทางชีวเคมีเพื่อตรวจสอบหมักย่อยน้ำตาล โดยใช้ 1% PR glucose และ 1% PR mannitol ถ้าเกิดการหมักย่อยน้ำตาลจะมีกรดเกิดขึ้น อาหารจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้ง MRSA และ MSSA โดยวิธี Disk diffusion method

2.1 การสกัดสมุนไพรสด^{29,30}

การสกัดสมุนไพรสดดัดแปลงมาจากวิธีการของ Samy and Ignacimuthu (1998) และ Junaid et al. (2006) ดังนี้โดยนำสมุนไพรสด ได้แก่ ขมิ้นชัน ขิง ข่า กระเทียม พริก และใบมะกรูด มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น นำไปตากให้แห้งและนำไปอบที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำสมุนไพรแห้งที่ได้มาบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น นำสมุนไพรบดไปสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99.8% ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมากรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ หลังจากกรองแล้วนำมาระเหยตัวทำละลายเมทานอลออกด้วยการนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นเก็บสารสกัดสมุนไพรที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำออกมาใช้

2.2 การเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสกัดสมุนไพรสกัดสดบางชนิด^{30,31}

การเตรียมสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสกัดสมุนไพรสกัดสดบางชนิดโดยการดัดแปลงมา

จากวิธีการของ Junaid et al. (2006) และ Chandrasekaran et al. (2009) โดยนำผงสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสกัดสด (จากข้อ 2.1) มาชั่ง จากนั้นนำมาละลายด้วยตัวทำละลายเมทานอล 99.8% ในอัตราส่วนสมุนไพร 1 มิลลิกรัมต่อเมทานอล 1 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Stock solution) นำมาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 การเตรียมแผ่น Disk^{31, 32}

การเตรียมแผ่น Disk เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดโดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Voravuthikunchai et al. (2005) และ Chandrasekaran et al. (2009) กระดาษกรอง Whatman No. 1 จะให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสกัดสด ที่ได้จากข้อ 2.2 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาหยดบน Disk วางให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เตรียม Disk ที่ใช้เป็นชุดควบคุม (Negative control) โดยหยดตัวทำละลายเมทานอลลงบน Disk ที่ปราศจากเชื้อ Disk ละ 10 ไมโครลิตร (ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

2.4 การเตรียมเชื้อ³³

การเตรียมเชื้อเพื่อใช้ทดสอบดัดแปลงมาจากวิธีการของ Nwinyi et al. (2009) โดยนำเชื้อ MRSA และ MSSA ที่เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส มาจีด (Streak) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อมาปรับให้ได้เชื้อปริมาณเท่ากับ 0.5 Mcfarland (10^8 CFU/mL) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth

2.5 การทดสอบความไวของ MRSA และ MSSA ต่อสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิด^{34,35}

การทดสอบความไวของ MRSA และ MSSA ต่อสารสกัดสมุนไพรทั้งสองรูปแบบตามวิธีมาตรฐานของ Forbes et al. (2002) และ National Committee for Clinical Laboratory Standards (2004) โดยนำเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 2.4 มาป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA) ให้ทั่วผิวน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ 3-5 นาที นำ Disk สารสกัดที่เตรียมไว้ในข้อ 2.3 มาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA ทำชุดควบคุม (Negative control) และ Gentamicin 10 ไมโครกรัม/Disk (Positive control) วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัด จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ที่เกิดขึ้นรอบ ๆ แผ่น Disk ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ผลการวิจัย

1. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันต่อ MRSA และ MSSA

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันกับ MRSA และ MSSA พบว่าสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันความเข้มข้น 20 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ทุกไอโซเลต แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้ 2 ไอโซเลต คือ MRC15 และ MRC20 จากจำนวน MRSA ทั้งหมด 20 ไอโซเลต โดยให้บริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 1.16 ± 0.06 ถึง 1.18 ± 0.00 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้ง MSSA ได้ 1

ไอโซเลต คือ MSC16 จากจำนวน MSSA ทั้งหมด 20 ไอโซเลต โดยให้บริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.16 ± 0.00 มิลลิเมตร นอกจากนี้เมื่อพิจารณาการยับยั้งของ Gentamicin พบว่ายาปฏิชีวนะชนิดนี้สามารถยับยั้ง MRSA ได้ 6 ไอโซเลต โดยให้บริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 19.00-25.00 มิลลิเมตร และพบว่ายาปฏิชีวนะชนิดนี้ไม่สามารถยับยั้ง MRSA ทั้ง 2 ไอโซเลตได้แต่อย่างใดก็ตาม Gentamicin สามารถยับยั้ง MRSA ที่สารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันไม่สามารถยับยั้งได้จำนวน 6 ไอโซเลต ส่วนการยับยั้งของ Gentamicin ต่อ MSSA พบว่ายาปฏิชีวนะชนิดนี้ไม่สามารถยับยั้ง MSSA ที่กล่าวมาข้างต้นได้ซึ่ง Gentamicin สามารถยับยั้ง MSSA ได้จำนวน 15 ไอโซเลต โดยให้บริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 13.00-20.00 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

2. ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียมต่อ MRSA และ MSSA

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียมต่อ MRSA พบว่าสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียมที่ความเข้มข้น 20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้ (1.00 ± 0.00 มิลลิเมตร) และเมื่อพิจารณาการยับยั้งของ Gentamicin พบว่ายาปฏิชีวนะชนิดนี้สามารถยับยั้ง MRSA ได้ 6 ไอโซเลต คือ MRP03, MRP05, MRP08, MRP09, MRP10 และ MRP18 ให้บริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 19.00-25.00 มิลลิเมตร ส่วนความสามารถของ Gentamicin ในการยับยั้ง MSSA พบว่ายาปฏิชีวนะชนิดนี้สามารถยับยั้ง MSSA ได้จำนวน 15 ไอโซเลต คือ MSP01, MSP02, MSP03, MSP05, MSP08, MSP09, MSP10, MSC11, MSC12, MSC13, MSC15, MSC17, MSC18, MSC19 และ MSC20 โดยให้บริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 13.00-20.00 ม

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันต่อ MRSA

ไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)				
	20 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	100 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	500 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	Negative control	Positive control
MRP01	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRP02	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRP03	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MRP04	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRP05	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	22.00 (S)
MRP06	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRP07	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRP08	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	25.00 (S)
MRP09	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MRP10	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	19.00 (S)
MRC11	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC12	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC13	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC14	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC15	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.16 ± 0.06	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC16	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC17	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MRC18	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	19.00 (S)
MRC19	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	9.00 (R)
MRC20	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.18 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	21.00 (S)

หมายเหตุ Negative control: ชุดควบคุมคือ เมทานอล 99.8%, Positive control: คือ Gentamicin ไมโครกรัม/Disk

R (Resistant): ให้โซนยับยั้ง < 13 มิลลิเมตร, S (susceptible): ให้โซนยับยั้ง > 14 มิลลิเมตร

ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Triplicate)

ตารางที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันต่อ MSSA

ไอโซเลท	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			Negative control	Positive control
	20 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	100 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	500 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร		
MSP01	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	19.00 (S)
MSP02	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	19.00 (S)
MSP03	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	18.00 (S)
MSP04	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MSP05	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	18.00 (S)
MSP06	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MSP07	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MSP08	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	18.00 (S)
MSP09	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	19.00 (S)
MSP10	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MSC11	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MSC12	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	17.00 (S)
MSC13	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	17.00 (S)
MSC14	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MSC15	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MSC16	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.16 ± 0.00	1.00 ± 0.00	6.00 (R)
MSC17	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MSC18	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
MSC19	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	17.00 (S)
MSC20	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	20.00 (S)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	21.00 (S)

หมายเหตุ Negative control: ชุดควบคุมคือ เมทานอล 99.8%, Positive control: คือ Gentamicin ไมโครกรัม/Disk

R (Resistant): ให้โซนยับยั้ง < 13 มิลลิเมตร, S (susceptible): ให้โซนยับยั้ง > 14 มิลลิเมตร

ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Triplicate)

3. ประสิทธิภาพของสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดต่อ MRSA และ MSSA

ในการศึกษาครั้งนี้ยังได้นำสมุนไพรสดบางชนิด ได้แก่ ขมิ้นชัน กระเทียม จิง ข่า พริก และใบมะกรูด มาทดสอบประสิทธิภาพของสารสมุนไพรสกัดสดจากสมุนไพรทั้ง 6 ชนิดในการต้านเชื้อ MRSA และ MSSA ผลการทดลองพบว่าสารสมุนไพรสกัดสดทั้ง 6 ชนิด ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทั้ง 2 กลุ่มเลข (1.00 ± 0.00 มิลลิเมตร) ในทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (20, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนความสามารถในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ของ Gentamicin พบว่าสามารถยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้ 6 (MRP03, MRP05, MRP08, MRP09, MRP10 และ MRP18) และ 15 ไอโซเลท (MSP01, MSP02, MSP03, MSP05, MSP08, MSP09, MSP10, MSC11, MSC12, MSC13, MSC15, MSC17, MSC18, MSC19 และ MSC20) โดยให้บริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 19.00-25.00 และ 13.00-20.00 มิลลิเมตรตามลำดับ

อภิปรายผลการวิจัย

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิด ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่ MRSA และ MSSA พบว่าสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งเชื้อกลุ่ม MRSA และ MSSA ได้³⁶⁻³⁸

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันพบว่าสามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ทั้งสองสายพันธุ์ที่นำมาศึกษาได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้โดยมีค่า Minimum

inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*²³ และการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากขมิ้นชันที่สกัดด้วย Ethyl acetate, Methanol และน้ำ ในการยับยั้งการเจริญของ MRSA พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย Ethyl acetate มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ MRSA ได้มากกว่าสารสกัดที่ได้จากการใช้เมทานอลและน้ำ³⁹ การยับยั้งการเจริญของขมิ้นชันนั้นอาจเป็นเพราะ ขมิ้นชันประกอบด้วยสารสำคัญคือ Curcuminoids⁴⁰ ซึ่ง Curcuminoids มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง สามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา⁴¹ และจากการศึกษา Ethanol fraction, Resin fraction และ Ionic fraction ของ Turmeric oil ที่สกัดจากขมิ้นชันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิด เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* และ *Bacillus subtilis* แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบเลย⁴² และยังสอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของกระชายดำ และส้มแขกสำเร็จรูปต่อ *Staphylococcus aureus* พบว่ากระชายดำ ณ ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ MRSA และ MSSA ได้ ส่วนส้มแขก ณ ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพรองลงมา ซึ่งยับยั้งได้ 75% และ 60% ตามลำดับ²²

จากจำนวน MRSA และ MSSA ที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดและเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลการทดลองครั้งนี้พบว่าสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากขมิ้นชันมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้มากกว่าสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลองและน่าจะมีประสิทธิภาพเช่นเดียวกับกระชายดำเนื่องจากขมิ้นชันและกระชายดำอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกัน^{43,44} นอกจากนี้ยังพบว่า

Turmeric oil มีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและ DNA ของแบคทีเรียต่าง ๆ เหล่านี้และพบว่าการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียลดลงตามปริมาณความเข้มข้นของ Turmeric fraction ซึ่งแสดงให้เห็นว่าส่วนประกอบของขมิ้นชันนั้นมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและ DNA ของแบคทีเรียแกรมบวก⁴⁵ และยังสอดคล้องกับการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดสารขมิ้นชันในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยสารสกัดขมิ้นชันสามารถยับยั้ง *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*⁴⁶ รวมทั้งมีรายงานที่นำสารสกัดขมิ้นชันมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยวิธี Disk diffusion พบว่า สารสกัดขมิ้นชันสามารถยับยั้ง *Streptococcus pyogenes* การยับยั้งแบคทีเรียของขมิ้นชันอาจเป็นเพราะ Curcuminoid ที่เป็นสารประกอบในขมิ้นชันสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบได้⁴⁷

สำหรับสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าจากกระเทียม ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง MRSA และ MSSA ที่ใช้ในการศึกษาซึ่งขัดแย้งกับรายงานการศึกษาสาระสำคัญในกระเทียมซึ่งพบว่ามีสารประกอบคือ Diallyl sulphide (DAS) และ Diallyl disulphide (DADS) มีฤทธิ์ในการยับยั้ง MRSA ในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน โดยพบว่าสาร Diallyl sulphide และ Diallyl disulphide สามารถลดปริมาณของ MRSA ได้เมื่อให้ Diallyl sulphide หรือ Diallyl disulphide ชนิดใดชนิดหนึ่ง จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า DAS และ DADS มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ MRSA ในหนูที่เป็นโรคเบาหวานได้⁴⁸ และจากรายงานการศึกษาประสิทธิภาพจากสารสกัดกระเทียมต่อ *Escherichia coli* O-157 พบว่าสามารถยับยั้ง *Escherichia coli* O-157 ได้ และเมื่อนำมาทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคพบว่าสารสกัดกระเทียมสามารถ

ยับยั้ง MRSA, *Salmonella enteritidis* และ *Candida albicans* ได้⁴⁹

นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสมุนไพรสกัดสดจากขมิ้นชัน กระเทียม จิง ข่า พริก และใบมะกรูด ในการต้านเชื้อ MRSA และ MSSA ผลการทดลองพบว่าสารสกัดสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งไม่สอดคล้องกับการรายงานที่ผ่านมา ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกขี้หนูสด ในการยับยั้งแบคทีเรีย พบว่าพริกขี้หนูสดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter lwoffii* และ *Vibrio cholerae*⁵⁰ และรายงานวิจัยความสามารถของพริกในการยับยั้ง *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*⁵¹ ทั้งนี้การยับยั้งแบคทีเรียเป็นผลจากพริกขี้หนูมีสารแคปไซซินซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย⁵² นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงฤทธิ์ของสารสกัดจิง กระเทียม และมะกรูด ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งสมุนไพรที่ให้ผลในการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ จิง รองลงมาได้แก่ กระเทียม และมะกรูด ตามลำดับ²⁴ และรายงานการทดลองเกี่ยวกับสารสกัดจากหัวหอม และจิง พบว่าสารสกัดจากหัวหอมและจิงนั้นสามารถยับยั้ง *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* และ *Bacillus subtilis* ได้⁵³ สาเหตุที่สารสกัดจากจิงนั้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียเนื่องจากจิงมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีสารเคมีหลายชนิดที่สำคัญคือ Zingiberene และ Zingiberol เป็นต้น นอกจากน้ำมันหอมระเหยยังมีสารพวกน้ำมันชัน (Oleo-resin) ซึ่ง Zingerol และ Shogaol ซึ่งเป็นสารที่ทำให้จิงมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย⁵⁴

ทั้งนี้การแสดงฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดที่แสดงฤทธิ์ค่อนข้างน้อยหรือไม่แสดงฤทธิ์เลยนั้นอาจเป็นเพราะสารสกัดที่นำมาทดสอบได้ผ่านกระบวนการผลิต¹⁶ เช่น การให้อุณหภูมิที่สูง หรือการใช้สารที่สกัดที่ไม่สามารถละลายสารออกฤทธิ์ออกมาได้จึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ทั้ง 2 กลุ่มลดลง⁵⁵ หรือสารออกฤทธิ์ที่ถูกสกัดออกมามีในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ทั้ง 2 กลุ่ม⁵⁶

การทดลองในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในประเทศไทยที่ทำการเปรียบเทียบสารสกัดจากสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดต่อแบคทีเรียกลุ่ม MRSA และ MSSA ที่คัดแยกจากโรงพยาบาลและผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าผลที่ได้แตกต่างจากผลการศึกษาที่ผ่านมา²² ซึ่งอาจจะเกิดจากสาเหตุหลายประการ ยกตัวอย่างเช่น ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียกลุ่ม MRSA และ MSSA ที่แยกได้จากผู้ป่วยในโรงพยาบาลที่พบว่ามีการดื้อยาหลายชนิดและส่วนใหญ่จะดื้อยาตั้งแต่ 3 ชนิดขึ้นไป⁵⁷ ดังนั้นสาเหตุที่สารสกัดที่นำมาศึกษาในครั้งนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่ค่อนข้างต่ำอาจจะเกิดจากแบคทีเรียกลุ่มที่นำมาศึกษาเป็นแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาหลายชนิดนั่นเอง รวมทั้งสมุนไพรที่ผลิตการค่านี้อาจจะมีกระบวนการผลิตบางส่วนที่ทำลายสารสำคัญในสมุนไพรมีฤทธิ์ยับยั้ง MRSA และ MSSA ในสมุนไพร³⁰ นอกจากนั้นกระบวนการสกัดสมุนไพรในครั้งนี้อาจจะยังไม่เหมาะสมในการสกัดสารมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มนี้และประการสุดท้ายการใช้การทดสอบด้วยวิธี Disk diffusion มีข้อจำกัดคือการใช้ปริมาณสารทดสอบในปริมาณที่ไม่มากนักและอาจจะไม่เพียงพอต่อการออกฤทธิ์อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดหยาบ แต่อย่างไรก็ตาม

พบว่าจากการศึกษารั้งนี้ทำให้เกิดข้อมูลบางส่วนที่สำคัญที่พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันที่ผลิตเป็นการค้าสามารถยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้บางส่วน ทำให้บ่งบอกถึงความเป็นไปได้ที่จะสามารถนำสารสกัดจากสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดของขมิ้นชันไปใช้ในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้ รวมทั้งการนำสารสกัดสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะนั้นมีความคุ้มค่าและไม่ทำให้เกิดผลการทนต่อเชื้อเหมือนกับยาปฏิชีวนะที่พบอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาต่อไปในการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรทั้งในรูปแบบที่ผลิตเป็นการค้าและสารสกัดสดและพัฒนากระบวนการสกัดให้มีความเหมาะสม รวมทั้งกระบวนการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดด้วยวิธี Agar well diffusion ที่สามารถเพิ่มความเข้มข้นและปริมาณสารสกัดที่สูงเพียงพอต่อการยับยั้งแบคทีเรียดังกล่าวต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพรที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA พบว่าสารสกัดสมุนไพรจากขมิ้นชันที่ผลิตเป็นการค่านั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของ MRSA และ MSSA ได้มากกว่าสารสกัดสมุนไพรจากกระเทียมที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งสารสกัดสมุนไพรดังกล่าวไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มเลย และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับรายงานวิจัยหลายฉบับที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดสมุนไพรจากกระเทียมที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดน่าจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง MRSA และ MSSA ได้

ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปจะทำการสกัดด้วยวิธีอื่นที่อาจจะเหมาะสมต่อการสกัดสารในการยับยั้ง MRSA และ MSSA รวมทั้งควรทำการทดสอบด้วยความเข้มข้นที่สูงเพิ่มขึ้นจากการศึกษาในครั้งนี้ และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสารที่มีฤทธิ์ต้าน MRSA และ MSSA ในสารสกัดสมุนไพรจากกระเทียมที่ผลิตเป็นการค้าและสารสมุนไพรสกัดสดบางชนิดเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นแนวทางในการนำเอาสมุนไพรไปพัฒนาเป็นยาปฏิชีวนะเพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อจาก MRSA และ MSSA ในอนาคตต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Oliveira CEV, Stamford TLM, Neto NJG, *et al.* Inhibition of *Staphylococcus aureus* in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. *Inter J Food Microbiol* 2010; 137: 312-6.
- Braga LC, Shupp JW, Cumming C, *et al.* Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *J Ethnopharmacol* 2005; 96: 335-9.
- JØrgensen HJ, Mathisen T, LØvseth A, *et al.* An outbreak of staphylococcal food poisoning caused by enterotoxin H in mashed potato made with raw milk. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 252: 267-72
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA Medical Microbiology, (22nd ed). In: Jawetz, Melnick, Adelberg's eds. The United States of America: Appleton & Lange, 2001.
- Kim K, Yu H, Jeong S, *et al.* Inhibitory effects of *Caesalpinia sappan* on growth and invasion of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol* 2004; 91: 81-7
- Lechner D, Stavri M, Oluwatuyi M, *et al.* The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica* (Bai Zhi). *Phytochemistry* 2004; 65: 331-5.
- Oluwatuyi M, Kaatz GW, Gibbons S. Antibacterial and resistance activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochem* 2004; 65: 3249-54.
- Pesewu GA, Cutler RR, Humber DP. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *J Ethnopharmacol* 2008; 116: 102-111.
- Quave CL, Plano LRW, Pantuso T, *et al.* Effects of extracts from Italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol* 2008; 118: 418-28.
- Pesavento G, Ducci B, Comodo N, *et al.* Antimicrobial resistant profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control* 2007; 18: 196-200.
- Enright MC, Robinson DA, Randle G, *et al.* The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *PNAS* 2002; 99(11): 7687-92.
- Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptides in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001; 7(2): 327-32.
- Zuo GY, Wang GC, Zhao YB, *et al.* Screening of Chinese medicinal plants for inhibition against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Ethnopharmacol* 2008; 120: 287-90.

14. Machado TB, Pinto AV, Pinto MCFR, *et al.* In vitro activity of Brazillian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and analogues, against meycillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21: 279-84.
15. Kamatua GPP, Viljoen AM, van Vuuren SF, *et al.* In vitro evidence of antimicrobial synergy between *Salvia Chamelaeagnea* and *Leonotis leonurus*. *S Afri J Bot* 2006; 72: 634-6.
16. Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, *et al.* Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *J Ethnopharmacol* 2006; 106: 290-302.
17. Elegami AA, Osman SM, Omer ME, *et al.* In vitro antibacterial activity on some Sudanese *Combretum* species. *Internat J Trop Med* 2007; 2(2): 45-51.
18. Zhao J, Li Y, Liu Q, *et al.* Antimicrobial activities of some thymol derivatives from the roots of *Inula hupehensis*. *Food Chem* 2010; 120: 512-6.
19. วันดี กฤษณพันธ์. สมุนไพรน้ำรู้ (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541.
20. Dupont S, Caffin N, Bhandari B, *et al.* In vitro antibacterial activity of Australian native herb extracts against food-related bacteria. *Food Control* 2006; 17: 929-32.
21. สมภพ ประธานนุรักษ์ และพร้อมจิต ศรีลัมพ์. สมุนไพร: การพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืน (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: เพ็ญฟ้า, 2547.
22. สุบัณฑิต นิมรัตน์ ฟีรพัฒน์ สุพรรณพันธุ์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. ประสิทธิภาพของกระชายดำและส้มแขกสำเร็จรูปต่อ *Staphylococcus aureus*, *วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ* 2553; ปีที่ 42 เล่มที่ 1 (มกราคม-มิถุนายน).
23. Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *J Ethnopharmacol* 1995; 49: 163-9.
24. Onyeagba RA, Ugbogu OC, Okeke CU, *et al.* Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn.), ginger (*Zingiber officinale* Rose.) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn.). *J Biotechnol* 2004; 3: 552-4.
25. Darwish RM, Aburjai T, Al-Khalil S, *et al.* Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol* 2002; 79: 359-64.
26. Holt JG, Sneath PH, Mair NS, *et al.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume 2. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986.
27. Colle JG, Frasher AG, Marmiom BP, Simmon A. Makie and McCartney's Practical Medical Microbiology, 14th edn. Churchill Livingstone, pp. 254-256 & pp. 796-800.
28. Hakim ST, Arshed S, Iqbal M, *et al.* Vancomycin sensitivity of *Staphylococcus aureus* isolates from hospital patients in Karachi, Pakistan. *Libyan Journal of Medicine, AOP: 070624* 2007; 1-6.
29. Samy RP, Ignacimuthu S. Screening of 34 Indian medicinal plant for antibacterial properties. *J Ethnopharmacol* 1998; 62: 173-82.
30. Junaid SA, Olabode AO, Onwuliri FC, Okwori AE, Agina SE. The antibacterial properties of

- Ocimum gratissimum* extracts on some selected bacterial gastrointestinal isolated. *Afr J Biotechnol* 2006; 5; 2315-2321.
31. Chandrasekaran M, Kannathasan K, Venkatesalu V, Prabhakar K. Antibacterial activity of some salt marsh halophytes and mangrove plants against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *World J. Microbiol. Biotechnol* 2009; 25; 155-160.
 32. Voravuthikunchai SP, Sririrak T, Limsuwam S, Supawita T, Lida T, Honda T. Inhibitory effects of active compounds from *Punica granatum* pericarp on verocytotoxin production by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J Health Sci* 2005; 51(5); 590-596.
 33. Nwinyi OC, Chinedu NS, Ajani OO, Ikpo CO, Ogunniran KO. Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *African J Food Sci* 2009; 3(3); 77-81.
 34. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Diagnostic microbiology. St. Louis: An Imprint of Elsevier Science, 2002.
 35. National Committee for Clinical Laboratory Standards [NCCLS]. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, Approved Standard M2-A8, Wayne: Pennsylvania, 2004.
 36. Inuma M, Tosa H, Tanaka T, *et al.* Antibacterial activity of xanthenes from guttiiferaeous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Pharm Pharmacol* 1996a; 48: 861-5.
 37. Inuma M, Tosa H, Tanaka T, *et al.* Antibacterial activity of some *Garcinia* benzophenone derivatives against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BPB* 1996b; 19: 311-4.
 38. Tanasiriwattana N, Natakuatung S, Tanajaro T. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Kaempferia galanga*, *K. parviflora* and *K. angustifolia*. Senior project of Pharmacy, Chulalongkorn University, 1997.
 39. Kim KJ, Yu HH, Cha JD, *et al.* Antibacterial activity of *Curcuma longa* L. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (Abstract). *Phytother res* 2005; 19(7): 599-604.
 40. Funk JL, Oyarzo JN, Frye JB. *et al.* Turmeric extract containing curcuminoids prevent experimental rheumatoid arthritis. *J Nat Prod* 2006; 69: 351-5.
 41. Lewis WH, Elvin-Lewis MPF. Medical botany. Toronto: John Wiley & Sons, 2003.
 42. Gul N, Mujahid TY, Jehan N, *et al.* Studies on the antibacterial effect of different fractions of *Curcuma longa* against urinary tract infection isolate. *PJBS* 2004; 7(12): 2055-60.
 43. สำนักงานคณะกรรมการการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข. สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2542.
 44. สมพร ภูติยานันต์. สมุนไพรใกล้ตัว. เชียงใหม่: เอรวิณ, 2551.
 45. Luper S. A review of plants used in the treatment of liver disease: part two. *Altern Med Rev* 1999; 4: 178-88.
 46. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, *et al.* Antibacterial activity of turmeric oil: A

- byproduct from curcumin manufacture. *J Agr Food Chem* 1999; 47: 4297-300.
47. วนิกา ไทรชมภู.ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันระเหยและสารเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาวิชาเภสัชเคมีและเภสัชเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล, 2537.
 48. Tsao SM, Hsu CC, Yin MC. Two diallyl sulphides derived from garlic inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in diabetic mice. *J Med Microbiol* 2007; 56: 803-808.
 49. Sasaki J, Kita T, Ishita K, *et al.* Antibacterial activity of garlic powder against *Escherichia coli* O-157 (Abstract). *J Nutr Sci Vitaminol* 1999; 45: 785-90.
 50. ภัค ไทยชนะ. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพริกขี้หนูสดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. ภาคนิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2547.
 51. พนมพร ภาณุทัต และสาวิตรี วาญญูไพศาล. การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในอาหารด้วยสารสกัดจากพืชเครื่องเทศและสมุนไพรไทยบางชนิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 2543.
 52. Siripongvutikorn S, Thammaratwasik P, Hung YM. Antimicrobial and antioxidation effects of Thai seasoning, Tom-yum. *LWT-Food Sci & Technol* 2005; 38: 347-52.
 53. Azu NC, Onyeagba RA. Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa* (Onions) and *Zingiber officinale* (Ginger) on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*. *Internet J Trop Med* 2007; 3: 351-72.
 54. Gughani HC, Ezenwanze EC. Antibacterial activity of extracts of ginger (*Zingiber officinale*) and African oil bean seed *Pentaclethra Macrophylla*. *J Commun Dis* 1985; 17(3): 233-6.
 55. Betoni JEC, Mantovani R, Barbosa LN, *et al.* Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006; 101(4): 387-90.
 56. Tsao SM, Hsu CC, Yin MC. Garlic extract and two diallyl sulphides inhibit methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in BALB/cA mice. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 974-80.
 57. สุบัณฑิต นิยมรัตน์, ดวงชีวัน พึ่งสุรินทร์, กาญจนา หิรัญเพ็ง และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. รายงานการวิจัยปีที่ 1 เรื่อง การพัฒนาสายสังเคราะห์ชนิดใหม่ในการฆ่าเชื้อ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ที่ระบาดในจังหวัดชลบุรีและฉะเชิงเทรา. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2553.